

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Sekarang ini banyak terdapat penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Bakteri tersebut bersifat patogen sehingga berbahaya bagi sel inangnya. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan bermacam-macam infeksi seperti jerawat, bisul, meningitis, osteomielitis, pneumonia dan mastitis pada manusia (Supardi, 1999). *Bacillus cereus* merupakan penyebab keracunan makanan, diare, infeksi mata, dan meningitis (Jawetz *et al.*, 2005). *Escherichia coli* dapat menyebabkan penyakit seperti diare, infeksi saluran kemih, pneumonia, meningitis pada bayi yang baru lahir dan infeksi luka (Karsinah dkk., 1994).

Antibiotik memberikan dasar utama untuk terapi infeksi mikroba (bakteri dan fungi). Namun, terlalu sering menggunakan antibiotik telah menjadi faktor utama bagi munculnya dan penyebaran beberapa kelompok mikroorganisme yang resisten terhadap antibiotik (Harbottle *et al.*, 2006). Dalam beberapa tahun terakhir, permasalahan resistensi bakteri pada penggunaan antibiotika merupakan salah satu masalah yang berkembang di seluruh dunia (Bronzwaer *et al.*, 2002). Hal tersebut menyebabkan bahan antibiotik sintetis menjadi tidak efektif lagi dan terkadang memberikan efek samping (Nwinyi *et al.*, 2009). Karena itu, diperlukan penelitian untuk mengembangkan antibiotik dari bahan alam, khususnya tanaman.

Aktivitas antibakteri dari tumbuhan disebabkan oleh adanya metabolit sekunder yaitu senyawa fenolik dengan berat molekul rendah. Uji aktivitas antibakteri famili Piperaceae telah banyak dilakukan. Berdasarkan penelitian Lakshmi Arambewela (2005) minyak atsiri daun sirih (*Piper betel*) dari Srilanka mempunyai nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yaitu sebesar $5,00 \times 10^3$ $\mu\text{g/mL}$ terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, $1,00 \times 10^4$ $\mu\text{g/mL}$ terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*, $1,00 \times 10^4$ $\mu\text{g/mL}$ terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, $3,12 \times 10^2$ $\mu\text{g/mL}$ terhadap bakteri *Escherichia coli*, $2,50 \times 10^3$ $\mu\text{g/mL}$ terhadap *Streptococcus pyogenes*. Minyak atsiri daun sirih pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus agalactiae*, tetapi hanya dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25% dan 50% (Poeloengan, 2006). Ekstrak etanol sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav) mempunyai kemampuan antibakteri terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif khususnya terhadap *Staphylococcus aureus* dengan KHM 25% dan *Escherichia coli* dengan KHM 6,25% (Juliantina, dkk., 2009).

Secara konvensional, metabolit sekunder dapat diperoleh dengan cara mengekstraksi langsung dari organ tumbuhan. Akan tetapi cara ini membutuhkan pasokan bahan segar tumbuhan dalam skala besar serta proses ekstraksi, isolasi dan pemurniannya membutuhkan biaya yang relatif mahal. Metode alternatif produksi senyawa metabolit sekunder yang lebih cepat, praktis, dan dapat menghasilkan produk yang berlimpah sangat diperlukan. Penggunaan kultur jaringan untuk produksi metabolit sekunder dapat digunakan sebagai metode

alternatif. Kultur jaringan mempunyai manfaat yang besar dibidang farmasi karena dari metode ini dapat dihasilkan senyawa metabolit sekunder sebagai bahan baku obat-obatan (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Kelebihan lain dari metode ini dibandingkan dengan metode konvensional adalah tidak adanya keterbatasan iklim, tidak memerlukan lahan yang luas, dan senyawa bioaktif dapat dihasilkan secara kontinu dalam keadaan yang terkontrol (Collin dan Edward, 1998). Pada kultur jaringan, kultur sel dan kultur kalus (kumpulan sel yang belum terorganisasi dan belum terdiferensiasi) berpotensi sebagai sarana produksi metabolit sekunder (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Penelitian ini akan menggunakan teknik kultur jaringan induksi kalus untuk mendapatkan metabolit sekunder. Berdasarkan penelitian, pemberian NAA dan kinetin mampu memacu pertumbuhan kalus pada kultur daun *Pogostemon cablin*. Pemberian NAA dan kinetin menjadikan kalus terus mengalami pertumbuhan. Kalus yang dihasilkan secara umum memperlihatkan pertambahan berat 3 kali lipat dari berat kalus awal sebelum perlakuan. Laju pertumbuhan kalus tertinggi adalah 151,1 mg/hari pada perlakuan dengan pemberian 2 mg/L NAA dan 1 mg/L kinetin pada masa inkubasi 5 minggu (Guntur *et al.*, 2003). Suryowinoto (1991) menyatakan bahwa medium MS yang dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin dengan perbandingan 2:3 merupakan media yang tepat untuk pertumbuhan kalus.

Auksin (NAA) memberikan pengaruh terhadap perkembangan sel karena auksin dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan permeabilitas sel, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan plastisitas dan pengembangan

dinding sel (Abidin, 1990). Sitokinin (kinetin) yang ditambahkan berperan dalam pembelahan sel dan sintesis protein. Induksi pembelahan sel dan sintesis protein oleh kinetin menyebabkan sel berproliferasi, akibatnya volume sel bertambah sehingga berat kalus yang dihasilkan meningkat. Adanya kenaikan sintesis protein oleh eksplan akibat pengaruh NAA dan kinetin maka dapat digunakan sebagai sumber energi dalam pertumbuhan eksplan (Wattimena, 1991). Tipe dan konsentrasi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin atau kombinasi keduanya sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan sel dan pembentukan produk metabolit sekunder (Manuhara, 2014). Zat pengatur tumbuh berperan dalam pengikatan membran protein yang berpotensi untuk aktivitas enzim. Hasil pengikatan ini mengaktifkan enzim tersebut dan mengubah substrat menjadi beberapa produk baru. Produk baru yang terbentuk ini menyebabkan serentetan reaksi-reaksi sekunder salah satunya adalah pembentukan metabolit sekunder (Wattimena, 1991).

Blom *et al.* (1990) mendapatkan ajmalisina dan serpentina pada kultur suspensi sel *Catharanthus roseus* menggunakan media LS (Linsmaire dan Skoog) ditambah 2 mg/L NAA dan 0,2 mg/L kinetin. Kultur kalus dan agregat sel *C. roseus* yang dipelihara dalam medium MS dengan penambahan NAA dan kinetin dapat memproduksi katarantin yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan penggunaan 2,4-D dan kinetin (Pandiangan dan Nainggolan, 2006). Hal ini disebabkan 2,4-D mampu menghambat transkripsi gen-gen pengkode enzim yang berhubungan dengan sintesis katarantin, seperti triptofan dekarboksilase (TDC) dan striktosidin sintase (SSS). Kombinasi zat pengatur tumbuh BA (*benzyl*

adenin) dan NAA (*naphtaleneacetic acid*) dapat meningkatkan *deoxyschizandrin* dalam kultur kalus *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill. terutama pada kultur kalus yang berdiferensiasi membentuk tunas (Szopa dan Ekiert, 2013). Manuhara (1994) mendapatkan alkaloid vinkristina tertinggi pada kultur kalus yang ditumbuhkan pada media IAA 1 mg/L dan BAP 1 mg/L dengan kadar sukrosa 40 g/L yaitu 19,7 $\mu\text{m/L}$ kalus kering. Pada penambahan BAP yang berbeda-beda, kalus kalus yang terdeteksi mengandung alkaloid vinkristina adalah kalus yang ditumbuhkan pada media MS dengan penambahan BAP 3 mg/L dan 4 mg/L dengan kadar alkaloid tertinggi pada media BAP 4 mg/L, yaitu 17,7 $\mu\text{g/g}$ berat kering.

Penggunaan berbagai variasi dan kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan dan pembentukan metabolit sekunder dari kalus sirih merah yang paling baik. Oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin untuk induksi kalus dari eksplan daun sirih merah.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian, maka dalam penelitian ini dapat dirumuskan masalah:

1. Apakah ada pengaruh penambahan variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin terhadap waktu induksi kalus, persentase terbentuknya kalus, morfologi (tekstur dan warna) kalus, berat basah

kalus, berat kering kalus dari eksplan daun sirih merah pada kultur *in vitro*?

2. Berapakah kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin yang paling baik digunakan untuk induksi kalus sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.)?
3. Senyawa metabolit sekunder apa sajakah yang dapat teridentifikasi dari kalus sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.) pada masing-masing variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin?

1.3 Asumsi Penelitian

Auksin (NAA) memberikan pengaruh terhadap perkembangan sel karena auksin dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan permeabilitas sel, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan plastisitas dan pengembangan dinding sel (Abidin, 1990). Sitokinin (kinetin) yang ditambahkan berperan dalam pembelahan sel dan sintesis protein. Pemacuan pembelahan sel dan sintesis protein oleh kinetin menyebabkan sel berproliferasi, akibatnya volume sel bertambah sehingga berat kalus yang dihasilkan meningkat. Adanya kenaikan sintesis protein akibat pengaruh NAA dan kinetin maka dapat digunakan sebagai sumber energi dalam pertumbuhan (Wattimena, 1991). Dengan pemberian variasi konsentrasi NAA dan kinetin yang tepat akan menghasilkan pertumbuhan kalus yang baik.

1.4 Hipotesis Penelitian

1.4.1 Hipotesis kerja

Jika zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin memiliki pengaruh terhadap kalus sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.) maka zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin dengan kombinasi konsentrasi berbeda akan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap Lama waktu terbentuknya kalus (hari), persentase terbentuknya kalus (%), berat basah dan berat kering kalus (g), morfologi kalus (tekstur dan warna) dan hasil analisis kandungan senyawa sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.).

1.4.2 Hipotesis statistik

H₀ : Tidak ada pengaruh variasi dan kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin terhadap Lama waktu terbentuknya kalus (hari), persentase terbentuknya kalus (%), berat basah dan berat kering kalus (g), morfologi kalus (tekstur dan warna) dan hasil analisis kandungan senyawa sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.).

H₁ : Ada pengaruh variasi dan kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin terhadap Lama waktu terbentuknya kalus (hari), persentase terbentuknya kalus (%), berat basah dan berat kering kalus (g), morfologi kalus (tekstur dan warna) dan hasil analisis kandungan senyawa sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.).

1.5 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh variasi dan kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin terhadap lama waktu terbentuknya kalus (hari), persentase terbentuknya kalus (%), berat basah dan berat kering kalus (g), morfologi kalus (tekstur dan warna) sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.).
2. Mengetahui kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin yang paling baik digunakan untuk induksi kalus sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.).
3. Mengetahui senyawa yang terkandung dari kalus sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.) hasil kultur *in vitro*.

1.6 Manfaat Penelitian

1. Memberikan acuan produksi metabolit sekunder dari sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.) menggunakan kultur kalus secara *in vitro*.
2. Dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan dan memberikan data dasar untuk pengembangan penelitian selanjutnya.